感染通天草（*Uraria crinita*）的花生條斑病毒（*Peanut stripe virus*）之鑑定

廖吉彥[1]　張清安[1]　賴瑞聲[2]　鄧汀欽[1*]

[1]台中縣霧峰鄉　行政院農委會農業試驗所植病組
[2]台中縣霧峰鄉　行政院農委會農業試驗所農藝組

(接受日期：2004 年 12 月 22 日)

摘要

廖吉彥、張清安、蔡錦慧、賴瑞聲、鄧汀欽*　2004　感染通天草（*Uraria crinita*）的花生條斑病毒（*Peanut stripe virus*）之鑑定　植保會刊　46：379 – 390

台灣栽培之藥材植物通天草發生疑似病毒病，從南投縣名間鄉採集具嵌紋病徵之通天草植株，經單斑分離得到一純系病毒株（9G-4）。經寄主範圍試驗、電子顯微鏡觀察、免疫電子顯微鏡觀察、電泳分析、西方轉漬反應及核酸與胺基酸序列比較，所分離的病毒株（9G-4）係花生條斑病毒（*Peanut stripe virus*，簡稱 PStV）的一個系統（strain）。本病毒接種奎藜後產生局部壞疽病斑。病毒爲長形顆粒狀，大小約 790-810 × 12-14 nm。病毒接種至奎藜繁殖，再利用硫酸銫等密度平衡離心法純化，純化所得 PStV 試料用以注射白兔製備抗血清。電泳分析純化的病毒鞘蛋白，其主要蛋白分子量約爲 35 kDa。經西方轉漬反應、SDS-瓊脂免疫擴散反應（immunodiffusion），自製的抗體與 PStV 有同源（homologous）血清反應。從本病毒 RNA 3' 端解序 1470 個核苷酸，與 GenBank 中的 PStV（Access No. AF132157）比較鞘蛋白基因之核苷酸的相同度達 88.8%，而其胺基酸相似度則爲 87.8%。本報告爲 PStV 感染通天草的首篇紀錄。

(關鍵詞：通天草、花生條斑病毒、病徵、抗血清、比對)

緒　　言

通天草（*Uraria crinita* (L.) Desv. Ex DC.）屬於豆科兔尾屬以花穗類似狗尾而得名，又名兔尾草、狗尾草，俗名狗尾仔草、九尾呆仔及台灣人蔘，全株除了花以外，皆可當藥材用(1)。目前種植面積約六十至八十公頃。主要分佈在南投縣名間

* 通訊作者。E-mail: tcde@wufeng.tari.gov.tw

鄉、清水鎮等中部地區，分春播及夏播全年皆可生產。

本次試驗的材料來自南投縣名間鄉通天草栽種區，其罹病植株病徵有黃化、嵌紋、葉面凹凸不平及矮化等（圖一）。通天草屬於豆科，而發生在台灣豆類作物中較具經濟重要性之八種病毒種類有菜豆嵌紋病毒（*Bean common mosaic virus*，簡稱 BCMV）、黑眼豇豆嵌紋病毒（*Blackeye cowpea mosaic virus*，簡稱 BlCMV）、豇豆蚜媒嵌紋病毒（*Cowpea aphid-borne common mosaic virus*，簡稱 CAMV）、花生斑紋病毒（*Peanut mottle virus*，簡稱 PMoV）、豌豆種媒嵌紋病毒（*Pea seed-borne mosaic virus*，簡稱 PSBMV）、花生條斑病毒（*Peanut stripe virus*，簡稱 PStV）及大豆嵌紋病毒（*Soybean mosaic virus*，簡稱 SMV）等七種屬於馬鈴薯 Y 病毒屬（*Potyvirus*），另外有一種屬於 *Cucumovirus* 之胡瓜嵌紋病毒（*Cucumber mosaic virus*, 簡稱 CMV），是否與上述本土型的病毒種類有關，實有必要對此病害之病原進一步探討，進而研擬相關之防治策略。

材料與方法

病毒來源與寄主範圍測定

從南投縣名間鄉通天草專業栽種區採集各種疑似病毒感染的植株，取其中葉部呈現嵌紋病徵之通天草罹病株，以 10 倍量的 0.05M 的磷酸緩衝液（PH 7.2）淬取莖部汁液，磨擦法接種於撒有 400 目金剛砂之奎藜（*Chenopodium quinoa*）葉片，待 7-10 天接種葉出現局部病斑後，挑取單一病斑重複接種於奎藜，重複三次後得一純系病毒株（9G-4），回接於通天草實生苗，並接種於奎藜上繁殖保存，作為後續試驗之接種源。寄主範圍測定以機械接種於通天草、千日紅（*Gomphrena globosa*）、紅藜（*C. amaranticolor*）、綠藜（*C. murale*）、

圖一、通天草感染病毒所呈現之病徵。
Fig. 1. Symptoms of *Uraria crinita* infected by virus.

煙草（*Nicotiana tabacum* var. Vam-Hicks）、豌豆（*Pisum sativum*）、四季豆（*Phaseolus vulgaris*）、蠶豆（*Vicia faba*）、胡瓜（*Cucumis sativus*）及花生（*Arachis hypogaea*）等植物葉片上，於網室中觀察至少一個月。

電子顯微鏡觀察

1.陰染法：

進行病毒顆粒之電子顯微鏡觀察乃以陰染法(4, 10, 11)爲之，切取接種後具局部病斑之奎藜葉片，壓取粗汁液以等量 2% 磷鎢酸（Phosphotungstic acid，PTA）行陰染後，以 Hitach 7000 電子顯微鏡進行觀察。進行免疫電子顯微鏡觀察時，則仿照 Milne(5, 15) 所述之程序，先以免疫球蛋白 IgG 覆膜處理（coating）於銅網（grid）上，再與罹病粗汁液反應吸附病毒，再以免疫球蛋白 IgG 覆蓋處理，爾後以前述方法陰染後再行鏡檢。

2.超薄切片法：

將接種發病之通天草葉片切成約 1.5 x 1.5 mm 之大小，以 2.5% 戊二醛（glutaraldehyde）行前固定，以 0.1 M 磷酸緩衝液水洗四次後，再以 1% 四氧化鋨（OsO_4）行後固定，再分別以 30、50、80、95、100%酒精系列脫水。之後將組織塊移入前置液（100%酒精：LR White 樹脂=1：1）進行滲透，隔夜再移入純 LR White 樹脂中(14, 16, 17)。最後將組織塊移入矽膠鑄造模板以 LR White 樹脂包埋。再移入 60 ℃ 烘箱 24 小時聚合硬化。硬化後之材料以超薄切片機切取 60-90 nm 的切片，最後以 2% 醋酸鈾（uranyl acetate）與檸檬酸鉛（lead citrate）(7, 16)進行雙重染色，完成鏡檢前之準備工作。過程中以健康葉爲對照處理。

病毒純化與抗體製備

接種九天後收集奎藜具局部病斑之葉片，以 1 倍量的 0.5M 磷酸緩衝液（pH 8.5, 內含 0.01M Na_2-EDTA）淬取汁液。再於 4 ℃下加入萃取汁液量 6 %（v/v）的氯仿（chloroform）攪拌 10 分鐘後，經 8000 rpm（Hitachi CR20B2）離心 10 分鐘，取上澄液，以 5ml 20% 蔗糖當墊底（cushion）的方式，經 28000 rpm（Hitachi SCP70G）離心 2.5 小時沉降濃縮病毒，再以 0.05 M 硼酸緩衝液（borate buffer、pH 8.2,內含 0.01 M Na_2-EDTA）懸浮沉澱物成爲初步純化試料。進一步純化則利用等密度平衡離心法(12)，將試料在 30 % Cs_2SO_4 中經 38000 rpm（Hitachi RP65T）離心 23 小時後，可在距離心管口 4.8 cm 處形成一蛋白光帶。抽取純化的病毒帶，以 0.01 M 磷酸緩衝液（pH 7.0）充分透析並離心去除雜質後，成爲純化病毒試料。經紫外光吸收光譜分析決定病毒純度及濃度後，定量（1 mg/ml）分裝並加以冷凍保存供後續試驗。進行病毒抗體之製備乃將此純化病毒試料 1 mg/ml 加等量之完全補助劑充分乳化，於家兔後腿行肌肉注射，以後每隔七天追加注射則以不完全補助劑乳化等量純化病毒試料，總共追加注射三次。最後一次注射後第七天起每星期自家兔耳部行靜脈採血，所採集之抗血清，分裝後置於-75℃下冷凍保存。免疫球蛋白 IgG 之純化則根據 Clark and Adams (5, 6) 所述之方法爲之。

病毒鞘蛋白分子量測定與轉漬分析

純化之病毒試液經 SDS-PAGE 電泳分離後，取下膠體，其中一片膠體以 0.025 % Coomassie blue R250（CBR250）染色後觀察蛋白帶數目及移動距離，據以計算病毒鞘蛋白之分子量之大小。另一片膠體則放入轉漬槽內，以 100 V 通電 1.5 小時將蛋白轉漬於硝化纖維膜上(13)，再與各種供試病毒抗體反應，然後以鹼性磷酸酵素標定之山羊抗兔免疫球蛋白（Sigma A8233）反應，最後以 NBT（nitroblue tetrazolium）及 BCIP（bromochloroindoyl phosphate）基質進行呈色。

凝膠雙擴散反應法（Ouchterony method）測定病毒血清

利用雙擴散反應法[2, 19]，中央孔穴相距 4 mm 之周圍同樣作六個等距離之孔穴後，將花生條斑病毒（*Peanut stripe virus*，PStV）之抗血清及抗菜豆普通嵌紋病毒（*Bean common mosaic virus*，BCMV）分離株（A10）之抗血凊分別放置於中央穴，周圍孔穴分別置放 BCMV、9G-4 病毒分離株、及花生條斑病毒（PStV）等抗原試料，水平置於保濕袋中進行擴散反應，觀察其反應帶的出現。

核酸分析

1.反轉錄－聚合酶連鎖反應（RT-PCR）

取 140µl 純化之病毒利用全量 RNA 純化試劑（Qiagen，QIAamp Viral RNA Mini Kit），進行全量 RNA（total RNA）之純化。以 *Potyvirus* 專一性引子對（HRP5: 5’-ATgAHgARKCNTGgggg-3’;Pot1:5’-AgCTg gATCCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTV）爲引子。利用反轉錄試劑組（Stratagene Inc.，La Jolla，CA）合成第一股 cDNA。進行 PCR 反應時，於每一 50 µl 反應中分別加入 3 µl cDNA、5 µl 10x PCR buffer、4 µl 2.5Mm NTP、0.1 U Ex-Taq Polymerase（Takara Shuzo Co.，Shiga，Japan）、及各 2.5 µl 之 20Mm HRP5 及 Pot1 引子對，於熱循環反應儀（GeneAmp model 2400，Perkin-Elmer Co.，Norwalk，CT）中進行 30 個 PCR 循環反應。反應程序爲 94℃下變性 2 分鐘，56℃下煉合 1 分鐘，72℃下聚合 1.5 分鐘，最後一個循環中之 72℃下聚合延長 8 分鐘。此反應預估可增幅出大小約 1.4 K 之核酸產物，反應結果以電泳進行分析。

2.核酸片段選殖和序列分析

經上述 RT-PCR 增幅所得大小約 1.4 K bp 之 DNA 片段，以 EcoRI 切割後構築於 pCRII 載體上（Invitrogen Carlsbad，CA），經由轉形作用送入 *E.coli* DH5α宿主，利用藍白菌落反應初步選出可能含有嵌入序列之菌株，後經微量質體純化分析，進一步選出確定之轉型菌株。再以 ABI PRISM 377-96 DNA 序列分析儀（Perkin-Elmer，CA，USA）及其配用之放射性標識反應試劑組（ABI PRISM BioDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit）進行核苷酸序列分析，將此所得序列利用 GCG Wisconsin Package 與 GenBank 上已正式登錄之核苷酸序列進行分析比對。

結　　果

病毒之來源與寄主範圍測定

總共將 9G-4 分離株接種於 5 科 11 種不同供試植物，其中共有 2 科 3 種出現病徵，除在回接健康之通天草上有系統性嵌紋病徵外，其餘皆僅產生局部壞疽病斑（necrotic spots）（圖二）。即綠藜、奎藜及紅藜接種葉於第 8 天後出現約 0.3 mm 大小之黃暈斑點。其餘千日紅、煙草、豌豆、蠶豆、胡瓜及花生等則未出現任何病徵。

病毒純化

純化所得的病毒顆粒其 A260/A280 比值爲 1.018，依 Dijkstra and De Jager[6] 估算病毒收量爲每 100 g 奎藜材料約可純化 4.17 mg 病毒，將病毒汁液回接原寄主通天草及判別植物，結果發現與上述寄主反應相同。

電子顯微鏡觀察

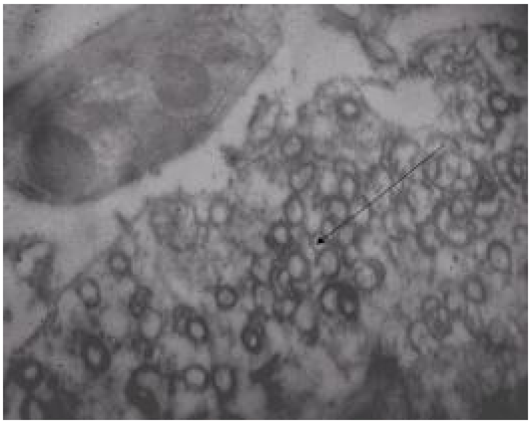
從所接種奎藜病斑組織汁液經 2% PTA 陰染，所觀察到組織內的病毒顆粒大小約 790-810 x 12-14 nm 長絲狀顆粒。利用電子顯微鏡觀察病組織超薄切片，可觀察到通天草病斑組織葉片的細胞質內有 *Potyvirus* 特有的圓筒形內含體，包括束狀、風車狀[10]（圖三）。同時尚可觀察到不定形內含體（amorphous inclusions）。

免疫電子顯微鏡觀察

病毒顆粒經抗體吸附反應後，在電子顯微鏡下觀察由於病毒粒子表面抗原及抗體反應，發現病毒顆粒周圍被修飾一層（decoration）反應膜（圖四）。

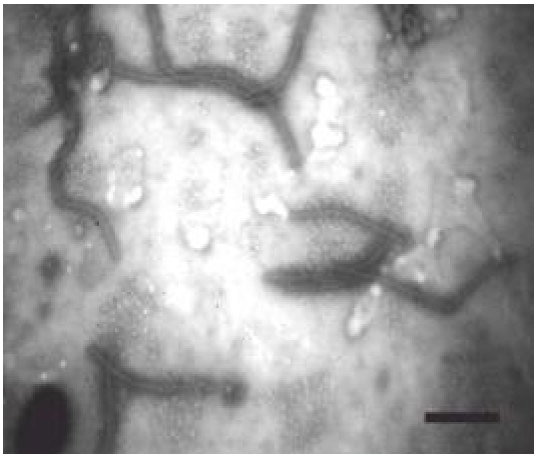
圖二、通天草病毒分離株 9G-4 接種至指示植物所形成之病徵：局部病斑於奎藜上（左），及系統性嵌紋病徵於通天草上（右）。

Fig. 2. Symptoms of indicator plants inoculated with *Uraria* virus isolate 9G-4: local lesions on *Chenopodium quinoa* (left), and a stemic mosaic pattern on *U. crinita* (right).



圖三、通天草病毒分離株 9G-4 感染通天草之葉片病組織超薄切片圖:風車形內含體存在細胞內。

Fig. 3. Ultrathin section micrography of *Uraria crinita* infected with *Uraria* virus isolate 9G-4 showing inclusions of a pinwheel pattern (indicated by the arrow) in the cell.



圖四、通天草病毒分離株 9G-4 病毒顆粒經同源抗體反應被捕住修飾後，以電子顯微鏡觀察之結果。

Fig. 4. Virions of *Uraria* virus isolate 9G-4 trapped and decorated by homologous antibody as observed by electron microscopy. (bar = 200 nm)

鞘蛋白分子量測定及轉漬反應

將純化的病毒鞘蛋白以 12% SDS 解離，再經膠體電泳分析，並與標記蛋白比對結果，其主要次蛋白分子量約為 35 kDa，且在轉漬於硝化纖維膜後，再與本病毒抗體反應，在 35 kDa 處產生紫色之反應帶。

雙向免疫擴散反應

雙向免疫擴散反應試驗顯示 BCMV（A10）抗血清與 9G-4 病毒分離株、PStV 及 BCMV 之罹病汁液抗原均產生沈澱反應，然而 9G-4 病毒分離株之抗血清只與 9G-4 病毒分離株及 PStV 等抗原產生沈澱反應，卻不與菜豆普通嵌紋病毒分離株（A10）有反應，顯示通天草病毒（9G-4）病毒分離株與 PStV 在血清學特性上相近（圖五）。

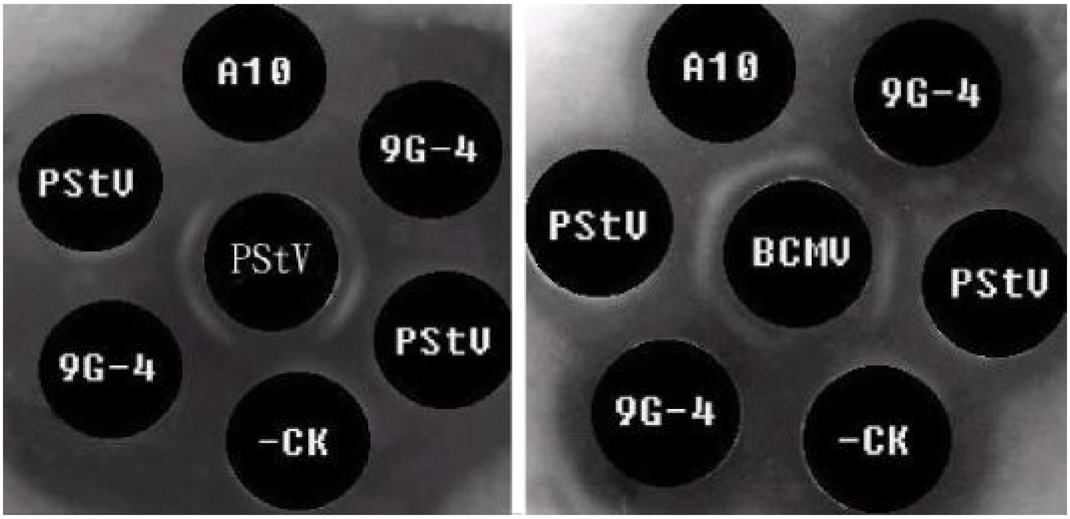
核酸分析

1.反轉錄－聚合酶連鎖反應（RT-PCR）

以 Pot1 及 HRP5 為專一引子對，預估可於 RT-PCR 後獲得一約 1.4 K bp 之 DNA 產物，結果證實以病毒 RNA 為模版，獲得一與預估值相符之 DNA 片段（圖六）。

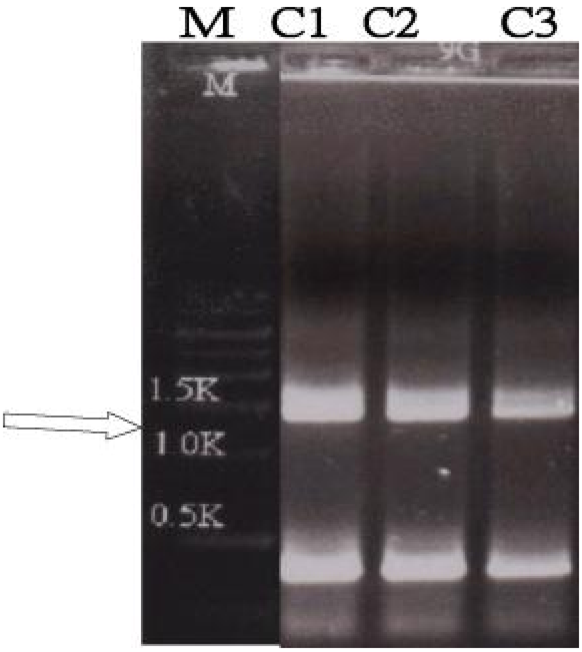
2.核酸片段選殖和核酸序列分析

選出可能含有嵌入序列之選殖菌株 3 個，經電泳分析之結果如圖八 B 所示。將此序列利用 GCG Wisconsin Package 的 Blast 及 FastA 程式，與 GenBank 上已正式登錄的核苷酸序列進行相同性百分率比對，得知與 *Peanut stripe virus*（Access No.AJ132157 partial genome）的鞘蛋白基因之核苷酸相同度高達 88. 8%，而其胺基酸相似度為 87. 8%，再以其中的序列分析程式 Pileup 及 prettybox 進行核酸、胺基酸的差異性比對（圖七、八），顯示出兩者之間在 CP gene 差異所在，主要在有小一段胺基酸序列缺失之不同。



圖五、 免疫擴散反應測定通天草病毒 9G-4 分離株、菜豆普通嵌紋病毒（BCMV）之分離株（A10）與花生條斑病毒（PStV）之血清類原關係。試驗時中央穴分別加入 PStV（左）及 BCMV（右）抗血清，周圍各穴則分別加入供試的病毒抗原，包括-CK 為對照。

Fig. 5. Serologicsl relationships of *Uraria* virus isolate 9G-4 between *Peanut stripe virus* (PStV) and *Bean common mosaic virus* (BCMV) as determined by SDS-immunodiffusion. In the tests, antibodies of PStV and BCMV were loaded in the central wells and the viral antigens including the healthy control (-CK) were added individually to the peripheral wells.



圖六、 通天草病毒 9G-4 分離株以專一性引子對（POT1、HRP5）進行鞘蛋白基因核苷酸序列反轉錄聚合酶鏈鎖反應之結果：合成之核酸經電泳分析，大小約 1.4 kb （箭頭所指），C1 及 C2：二個病毒部分純化試料；C3：罹病葉組織液。

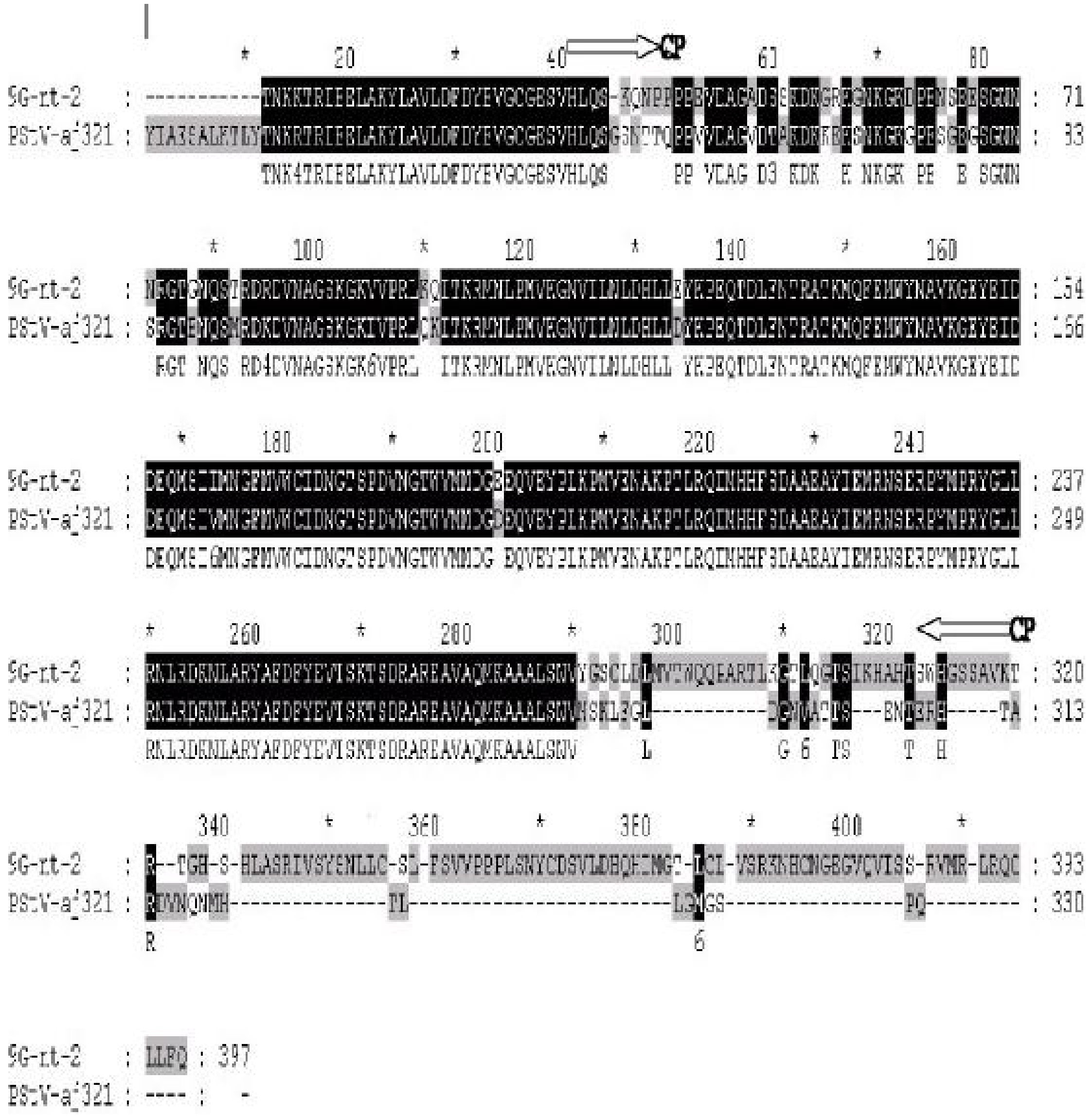
Fig. 6. Nucleic acid electrophoresis showing the results of reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) using specific primers (POT1, HRP5) to amplify the capsid protein gene of *Uraria* virus isolate 9G-4. The RT-PCR products of the 9G-4 capsid protein gene were about 1.4 kb. Lanes C1 and C2 are partially purified samples, and C3 was extracted from a plant infected by the virus. (indicated by the arrow).

討　　論

通天草病毒分離株（9G-4）經寄主範圍測定、電子顯微鏡觀察、免疫電子顯微鏡觀察及電泳分析病毒鞘蛋白、西方轉漬反應及核酸與胺基酸序列比較，可以確定所分離的病毒係接近 *Peanut stripe virus*（簡稱 PStV）之一個分離株（isolate），暫稱之為 *Peanut stripe virus* isolate U（簡稱 PStV-U）。根據 Descriptions and Lists from the VIDE Database 顯示 PStV 係 BCMV(8) 的一個系統（strain），因此在雙向免疫擴散反應試驗中出現沈澱條帶反應，反之若與抗通天草病毒分離株（9G-4）的血清反應，結果只與 PStV 及 9G-4 有沈澱條帶反應，與 BCMV 沒有沈澱條帶反應，再與核酸及胺基酸之序列比對顯示，通天草病毒分離株（9G-4）的核酸序列與 PStV 及 BCMV 的相同性各為 87.9%、88.8%，但胺基酸序列相似性各為 87.8%、71.3%。初步判定通天草病毒分離株（9G-4）係 PStV 之一個系統。再由寄主範圍得知通天草病毒分離株（9G-4）的寄主範圍，僅限於通天草，不感染花生及豌豆等其他的豆科作物，與 PStV 的寄主範圍頗有差異。其次通天草病毒分離株（9G-4）的胺基酸序列中比 PStV

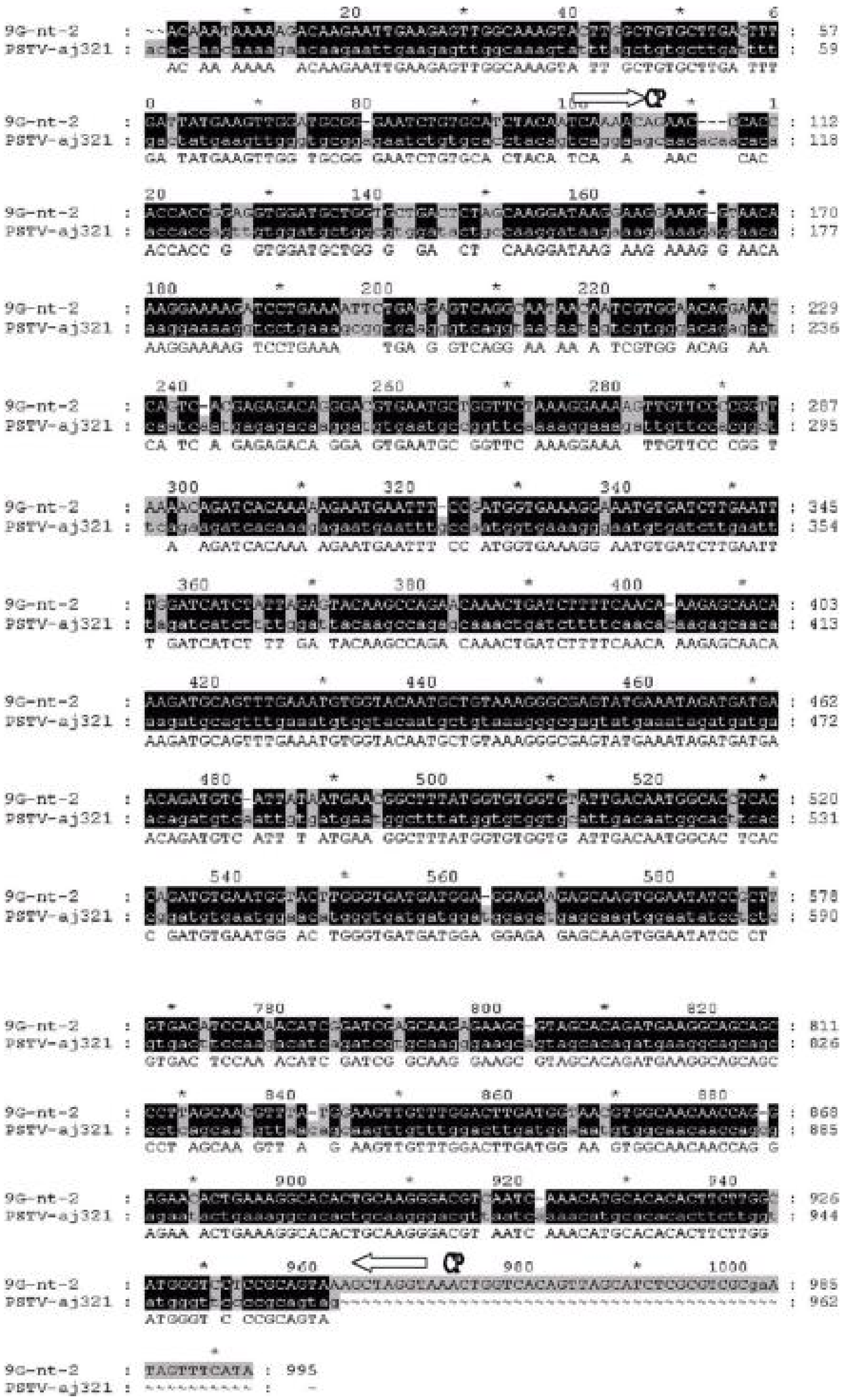
（Access No.AJ132157 partial genome），在 3’端多出一段胺基酸，此段胺基酸的作用機能，是否抑制病毒的細胞與細胞間的擴散[18]，有待進一步探討。

通天草病毒分離株（9G-4）其 3’端基因包含鞘蛋白基因 876 個核酸、289 個胺基酸及 240 個核酸的 NCR （non-coden-resion）與 pol (A)與來自大陸的 PStV（Access No.AJ132157 partial genome）不盡相同。從寄主範圍試驗顯示，本病毒分離株（9G-4）不感染台南 9 及 13 號品種之花生，也不感染菜豆，獨對通天草引起嚴重的病徵，這與 Green[9]的 PStV（PN strain）感染的寄主範圍相異。亦與張氏[3]的 PStV



圖八、通天草病毒 9G-4 分離株胺基酸序列與花生條斑病毒（GenBank accession no. AJ132157）比對之結果。

Fig. 8. Difference in the amino acid sequence of *Uraria* virus isolate 9G-4 and *Peanut stripe virus* (GenBank accession no. AJ132157).



圖七、通天草病毒 9G-4 分離株之核苷酸序列與花生條斑病毒（GenBank accession no. AJ132157）比對之結果。

Fig. 7. Difference in the nuclear acid sequences of *Uraria* virus isolate 9G-4 and *Peanut stripe virus* (GenBank accession no. AJ132157).

（Ts and Tc strain）不盡相同，是否由於 RNA 病毒缺乏錯誤修正之機制（error-correcting mechanism）使得其核酸在複製過程中產生突變或基因缺失等現象，促成病毒的演化使得更適應不同的寄主範圍，有待進一步探討。

引用文獻

1. 楊文乾。1998。奇草藥大圖鑑。林鬱文化事業有限公司出版。台北市。410 頁。
2. Ahmad, I. B., and Scott, H. A. 1984. An improved immunodiffusion terst for the detection of intact cucumber mosaic virus in crude sap. Phytopathology 74: 1097-1100.
3. Chang, C. A., Purcifull, D. E., and Zettler, F. W. 1990. Comparison of two strains of peanut stripe virus in Taiwan. Plant Dis. 74: 593-596.
4. Christie, S. R., Edwardson, J. R., and Zettler, F. W. 1968. Characterizaton and electron microscopy of a virus isolated from *Bidens* and *Lepidium* . Pl. Dis. Reptr. 52: 763-768.
5. Clark, M. F., and Adams, A. N. 1977. Characteristic of microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant virus. J. Gen. Virol. 34: 475-483.
6. Dijkstra, J., and de Jager, C. P. 1998. Practical plant virology: Protocols and exercises, pp. 277-284. *In*: J. Dijkstra, and C. P. de Jager [eds.], Springer-Verlag Berlin, Heidelberg. 459 pp.
7. Edwardson, J. R., and Ko, N. J. 1984. Potyvirus cylindrical inclusions - subdivision - IV. Phytopathology 74: 1111-1114.
8. Gibbs, A. J. 1995. Bean common mosaic *potyvirus* CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses. No. 73.
9. Green, S. K., Lee, D. E., Secor, and Lesemann, H. J. 1986. The occurrence of pesnut stripe virus on peanut and soybean in Taiwan. Plant Prot. Bull. 28: 445-446.
10. Hall, C. E., Jakus, M.A., and Marchant, J. C. 1945. The structure of certain muscle fibrils as revealed by the use of electron stains. J. Appl. Phys. 16: 459-465.
11. Hall, C. E. 1962. Electron microscopy: principles and application to virus research. In CORBETT and SISLER (1964), 253 pp.
12. Huang, C. H., Hseu, S. H., and Chao, Y. J. 1986. Purification and serology of an isolate of zucchini yellow mosaic virus. J. of Agri. Res. of China 34: 495-503.
13. Gooderham, K. 1984. Transfer techniques in protein blotting, pp. 165-178. *In*: J. M. Walker [ed.], Methods in Molecular Biology Vol. 1. Protein. Humana Press, Clifton, USA.
14. Ko, N. J. 1987. LR White embedding for immunogold labeling of virus-infected plant tissue. Proc. Natl. Counc. Sci. Series B., ROC 11: 206-210.
15. Milne, R. G., and Luisoni, E. 1977. Rapid immune electron microscopy of virus preparations. Method Virol. 6: 265-281.
16. Miyawaki, H. 1972. Non-aqeous negative staining - A method for applying negative to ultrathin section of epoxy embedded tissue. J. De. Micros. 13: 327-342.
17. Rana, G. L., Russo, M., Gallitelli, O., and Martelli, G. P. 1982. Artichoke latent virus: characterisation, ultrastructure and geographical distribution. Ann. Appl. Biol. 101: 279-289.

18. Rojas, M. R., Zerbini, F. M., Allison, R. F., Gilbertson, R. L., and Lucas, W. J. 1997. Capsid protein and helper component-proteinase function as potyvirus cell-to-cell monement proteins. Virology 237: 283-295.

19. Shepherd, J. E., Secor, G. A., and Purcifull, D. E. 1974. Immunochemical cross-reaction between the dissociated capid protein of PVY group plant virus. Virology 58: 464-475.

ABSTRACT

Liao, J. Y.[1], Chang, C. A.[1], Lai, R. S.[2], and Deng, T. C.[1]* 2004. Identification of *Peanut stripe virus* infecting *Uraria crinita*. Plant Prot. Bull. 45: 379-390. ([1] Plant Pathology Division, Taiwan Agriculture Research Institute, Council of Agriculture, Wufeng, Taichung, Taiwan 413, ROC; [2] Agronomy Division, Taiwan Agriculture Research Institute, Council of Agriculture, Wufeng, Taichung, Taiwan 413, ROC)

Uraria crinita (L.) Desv. Ex DC. a kind of medicinal plant cultivated in Taiwan was found to be infected by virus. A plant with leaf mosaic was collected from Nantou and from which a pure line of virus isolate (9G-4) was obtained through series of single lesion isolation. By host range test, electron microscope observation, immunosorbent electron microscopy, Ouchterlony immunodiffusion, coat protein electrophoresis, Western blotting, and RNA sequencing, the virus was identified as a strain of *Peanut stripe virus* (PStV). The virus systemically infected *Uraria crinita* and caused mosaic symptom, but locally infected *Chenopodium amaranticolor, C. quinoa* caused necrotic lesions. Electron microscopy of diseased tissue showed filamentous virus particles with 790-810 × 12-14 nm. The virus was purified from inoculated leaves of *C. quinoa* by isopycnic centrifugation in cesium sulfate and the purified preparation was used to inject rabbit for antiserum production. In SDS-PAGE, the virus was found consisting of one species of coat protein subunit and its molecular weight was estimated to be 35 kDa. In SDS-immunodiffusion, Ouchterlony method and Western blot, the prepared antiserum homologouslly reacted with PStV antigen. Total of 1470 nucleotides from the 3'-end region of this virus were sequenced and compared with those of *Peanut stripe virus* listed in GenBank (Access No. AF132157). The nucleotide identity of this CP is 88.8% and the amino acid similarity is 87.8%. This is the first report of *Peanut stripe virus* infecting *Uraria crinita* in Taiwan.

(Key words: *Uraria crinita*, *Peanut stripe virus*, symptom)

*Corresponding author. E-mail: tcde@wufeng.tari.gov.tw